

Abstract

Project Code: MRG5080176

Project Title: New approach for evaluation of total antioxidant capacity

Investigator: Maliwan Amatatongchai, Uboratchathani Univ.

Duangjai Nacapricha, Mahidol Univ.

Orawon Chailapakul, Chulalongkorn Univ.

E-mail Address: amaliwan@gmail.com, amaliwan@sci.ubu.ac.th

Project Period: 2 July 2007 - 30 June 2009

Abstract:

This work consists of two parts. In the first part, a new approach for evaluation of Total Antioxidant Capacity (TAC) based on the amperometric detection of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) at a carbon nanotubes-modified glassy carbon (CNT/GC) electrode was carried out. Electrochemical oxidations of DPPH and antioxidants, for examples catechin, quercetin, gallic acid, trolox and caffeic acid, were studied at the CNT/GC electrode using cyclic voltammetry and amperometric techniques. The cyclic voltammograms (CVs) of these compounds were firstly investigated in 40% ethanol-water solution containing 0.03 M KCl in 0.03 M phosphate buffer, pH 7.4. Comparison experiments were performed with glassy carbon (GC) electrode. Both of the GC and CNT/GC electrodes offer well-defined oxidation waves for all tested antioxidants. However, the CNT/GC provides a better sensitivity than GC electrode (8-30 times). The results from amperometry indicated that CNT/GC enable very sensitive and stable amperometric measurements of DPPH free radical. Capacities of the tested antioxidants were evaluated by amperometric detection of the residual concentration of non-reacted free radical. A simple amperometric detector for evaluation of TAC was constructed and applied to flow injection analysis (CNT/GC-FI). Wide linear calibration curves were observed for all tested antioxidants. The detection limits at a low μM level were obtained.

In the second part of this work, a high throughput screening (HTS) system for assaying TAC is developed using microfluidic technology. The indicator reaction was adopted from a catalytic effect of Co(II)/EDTA complex on chemiluminescence (CL) reaction between hydrogen peroxide (H_2O_2) and luminol. Specifically, the system is based on the continuous monitoring and detection of a loss in chemiluminescence, which is related to the total scavenging capacity of a sample solution towards H_2O_2 and $\text{HO}^\bullet$. The HTS system yields outstanding measurement precision (%RSD = 0.73) and processes minute volumes of reagents ($\sim 150 \mu\text{L}$ /analysis). Moreover, the system offers high sample throughput (~ 180 injections/hour) and therefore suited for mass screening of real-world samples. This method was successfully applied to evaluate antioxidant contents in some plant extracts such as Thai indigenous vegetables/herbs and generic fruit available in Thai markets.

Keywords: Antioxidant, Carbon nanotube, Amperometry, Luminol, Chemiluminescence

รหัสโครงการ: MRG5080176

ชื่อโครงการ: เทคนิคแบบใหม่สำหรับประเมินหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ชื่อนักวิจัย: มะลิวรรณ อมตธงไชย มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ดวงใจ นาคะปรีชา มหาวิทยาลัยมหิดล

อรรวรรณ ชัยลภากุล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: amaliwan@gmail.com, amaliwan@sci.ubu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ก.ค. 2550 ถึง 30 มิ.ย. 2552

บทคัดย่อ:

งานวิจัยนี้ประกอบด้วยสองส่วน ในส่วนแรกได้พัฒนาเทคนิควิเคราะห์แอมเปอร์โรเมทรีแบบใหม่เพื่อใช้ในการประเมินหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยการวัดปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ที่ขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่โมดิฟายด์ด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ (CNT/GC) ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารต้านอนุมูลอิสระที่สนใจเช่น catechin, quercetin, gallic acid และ caffeic acid ได้ศึกษาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่มี KCl ความเข้มข้น 0.03 M และเอทานอล 40% ได้เปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการใช้อิเล็กโทรดแบบกลาสซีคาร์บอน (GC) ธรรมดาและที่โมดิฟายด์ด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์ (CNT/GC) พบว่าไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้จากทั้งขั้วไฟฟ้า GC และ CNT/GC ให้พีคออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระที่สนใจที่ชัดเจน แต่ในขั้วไฟฟ้า CNT/GC มีสภาพไวที่สูงกว่าในขั้วไฟฟ้า GC (ประมาณ 8-30 เท่า) ในการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแบบแอมเปอร์โรเมทรีจะติดตามปริมาณของสารอนุมูลอิสระ (DPPH) ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ การวัดปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระจึงวัดได้จากการลดลงของสัญญาณจาก DPPH ได้นำวิธีการนี้ไปประยุกต์ใช้กับเทคนิคโพลีนีเมชันอะนาลิซิสเพื่อใช้เป็นเทคนิควิเคราะห์ในการประเมินหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (TAC) ผลการทดลองพบว่าเทคนิคที่ได้พัฒนาขึ้นให้กราฟมาตรฐานที่ป็นเส้นตรงในช่วงที่กว้างในสารต้านอนุมูลอิสระที่นำมาทดสอบ โดยมีขีดจำกัดในการวิเคราะห์ในระดับที่ต่ำถึงไมโครโมลาร์

งานวิจัยในส่วนที่สองได้พัฒนาวิธีที่รวดเร็วในการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เทคนิคการไหลระดับไมโคร ในการวิเคราะห์จะอาศัยปฏิกิริยาเคมีลูมินเนสเซนซ์ที่มีสารประกอบโคบอลต์/อีดีทีเอ (Co(II) /EDTA) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาระหว่างลูมินอลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้ออกแบบระบบวิเคราะห์โดยจะตรวจวัดสัญญาณของแสงที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีลูมินเนสเซนซ์อย่างต่อเนื่อง ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมของสารตัวอย่างวิเคราะห์ได้จากสัญญาณที่ลดลง เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์/ไฮดรอกซิลแรดิคัลส่งผลให้แสงที่วัดได้มีค่าลดลง ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นระบบวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงสูง (%RSD = 0.73) ใช้ปริมาณสารเคมีน้อย (~150 μ L/การวิเคราะห์) สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว (~180 ตัวอย่าง/ชั่วโมง) และเหมาะสมสำหรับใช้เป็นระบบตรวจวัดปริมาณของสารอนุมูลอิสระในตัวอย่างจริง ระบบที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดปริมาณของสารอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดจากผัก พืชสมุนไพร และผลไม้ต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

คำหลัก: สารต้านอนุมูลอิสระ, คาร์บอนนาโนทิวบ์, แอมเปอร์โรเมทรี, ลูมินอล, เคมีลูมินเนสเซนซ์